

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

**ZEITLICHER ZUSAMMENHANG
ZWISCHEN BLUTALKOHOLSPIEGEL UND
ÄNDERUNGEN DES LIPIDGEHALTES
IN BLUT UND LEBER**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Rudolf Pfeiffer
aus Nürnberg

1965

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan : Prof. Dr. med. Dr. med. dent. G. Steinhardt

Referent: Prof. Dr. med. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung:

~~7~~ 6. Dezember 1965



Zu Dank verpflichtet bin ich Herrn Professor Dr. med.
Norbert Henning für die freundliche Überlassung des
Themas und die Übernahme des Referates.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Dr. med. H.Schön†
Herrn Dr. med.W.Zeller und Herrn Dr. H. Ammon für
die jederzeit hilfreich gewährten Anregungen bei der
Anfertigung der Arbeit.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548619_0108

Aus dem Pharmakologischen Institut (Dir.: Prof. Dr. F. Heim)
und der Medizinischen Klinik (Dir.: Prof. Dr. N. Henning)
der Universität Erlangen-Nürnberg

Zeitlicher Zusammenhang zwischen Blutalkoholspiegel und Änderungen des Lipidgehaltes in Blut und Leber

Von H. P. T. AMMON, C.-J. ESTLER, W. ZELLER und R. PFEIFFER

Über den Einfluß von Äthanol auf den Lipidgehalt des Blutes liegen zahlreiche Untersuchungen mit z. T. einander widersprechenden Ergebnissen vor (4, 5, 8, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 21, 23, 24, 28, 29). Sie ergeben sich aus Unterschieden in der verwendeten Dosis, Darreichungsform und aus großen Unterschieden im Abstand zwischen der Alkoholverabreichung und dem Zeitpunkt der Untersuchung. Wir haben deshalb in der vorliegenden Arbeit an männlichen weißen Ratten nach i.v. Injektion von 2 mg/g Äthanol über den Zeitraum von 30 Stunden in 2–5stündigen Abständen den zeitlichen Verlauf der Änderungen des Gehaltes des Serums an freien Fettsäuren, veresterten Fettsäuren und Gesamtcholesterin sowie den Fettgehalt der Leber und des epididymalen Fettgewebes gleichzeitig mit dem Blutalkoholspiegel untersucht. Dabei interessierte uns vor allem, ob die Änderungen im Fettstoffwechsel die Verweildauer des Alkohols im Organismus ebenso überdauern können, wie wir dies bereits für bestimmte Änderungen im Kohlenhydratstoffwechsel nachweisen konnten (3). Dies schien uns auch für die Pathogenese der Fettleber des Alkoholikers von Bedeutung zu sein. Denn wenn die nach einmaliger Alkoholaufnahme auftretenden Störungen des Fettstoffwechsels bis zu einem Tag und länger anhalten, würde entsprechend den Trinkgewohnheiten des Alkoholikers die täglich erneute Alkoholaufnahme mit großer Wahrscheinlichkeit auf einen noch gestörten Fettstoffwechsel treffen, ein Vorgang, der die Entstehung einer chronischen Fettleber begünstigen könnte.

Methodik

Die Versuche wurden an 150–200 g schweren männlichen Ratten des Inzuchtstammes Sprague-Dawley bei einer Raumtemperatur von 24° C durchgeführt. Die Versuchstiere erhielten bis 12 Stunden vor dem Töten Standardkost Altromin (Altromin GmbH Lage/Lippe) bei freiem Flüssigkeitszutritt. In

Eingegangen: 13. November 1965.

kurzdauernder Äthernarkose wurde dekapitiert. Das Blut wurde durch Ausbluten in eisgekühlte Gefäße gewonnen. Die Versuchstiere erhielten 2 mg/g Äthanol als 20% (w/v) wässrige Lösung innerhalb von 2 min i.v. injiziert. Die einzelnen Analysen wurden 2, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30 Stunden nach der Alkoholinjektion durchgeführt. Als Kontrollen dienten unbehandelte Tiere. Ein Einfluß der mit dem Alkohol injizierten Flüssigkeitsmenge wurde durch Kontrollen, die i.v. ein entsprechendes Volumen Ringerlösung erhielten, ausgeschlossen.

Im Serum bestimmten wir den Gehalt an freien Fettsäuren nach *Dole und Meinertz* (9) sowie den Gehalt an veresterten Fettsäuren und Gesamtcholesterin nach *Connerty* u. Mitarb. (7). Der Fettgehalt der Leber und der epididymalen Fettdepots wurde als Gesamtfettsäuren (veresterte und nicht veresterte) nach einer modifizierten Methode von *van de Kamer* u. Mitarb. (17) ermittelt. Den Alkoholgehalt des Blutes bestimmten wir mit Hilfe der ADH-Methode nach *Bücher und Redetzki* (6).

Die Anzahl der Versuchstiere in den einzelnen Gruppen betrug 8–20. Die statistische Überprüfung der Unterschiede der Mittelwerte in den einzelnen Gruppen wurde mit Hilfe des t-Testes durchgeführt. Die Unterschiede wurden als signifikant angesehen, wenn $P \leq 0,05$.

Versuchsergebnisse

Die Ergebnisse unserer Versuche sind in Abb. 1 dargestellt. 2 Stunden nach Versuchsbeginn kommt es zur Abnahme des Fettgehaltes im Nebenhodenfettgewebe, zur Zunahme der freien Fettsäuren im Serum und des Leberfettgehaltes sowie zur Abnahme der veresterten Fettsäuren und des Gesamtcholesterins im Serum. Der 2 Stunden nach Versuchsbeginn erniedrigte Fettgehalt der epididymalen Fettpolster ist nach 8 Stunden nicht mehr von dem der Kontrollen verschieden. Die freien Fettsäuren sind im Gegensatz zur 2. Stunde, wo sie über der Norm liegen, nach 6 Stunden erniedrigt und kehren 14 Stunden nach der Alkoholinjektion zur Norm zurück. Der Fettgehalt der Leber nimmt bis zur 8. Stunde zu. Er ist 30 Stunden nach Versuchsbeginn nicht mehr signifikant erhöht. Der Gehalt des Serums an veresterten Fettsäuren ist von der 2.—30. Stunde herabgesetzt. Das Serumcholesterin ist bis zur 8. Stunde erniedrigt.

Diskussion

Die während der ersten 2 Stunden nach der i.v. Injektion von 2 mg/g Äthanol auftretenden Änderungen im Fettgehalt des epididymalen Fettgewebes sowie im Gehalt des Serums an freien

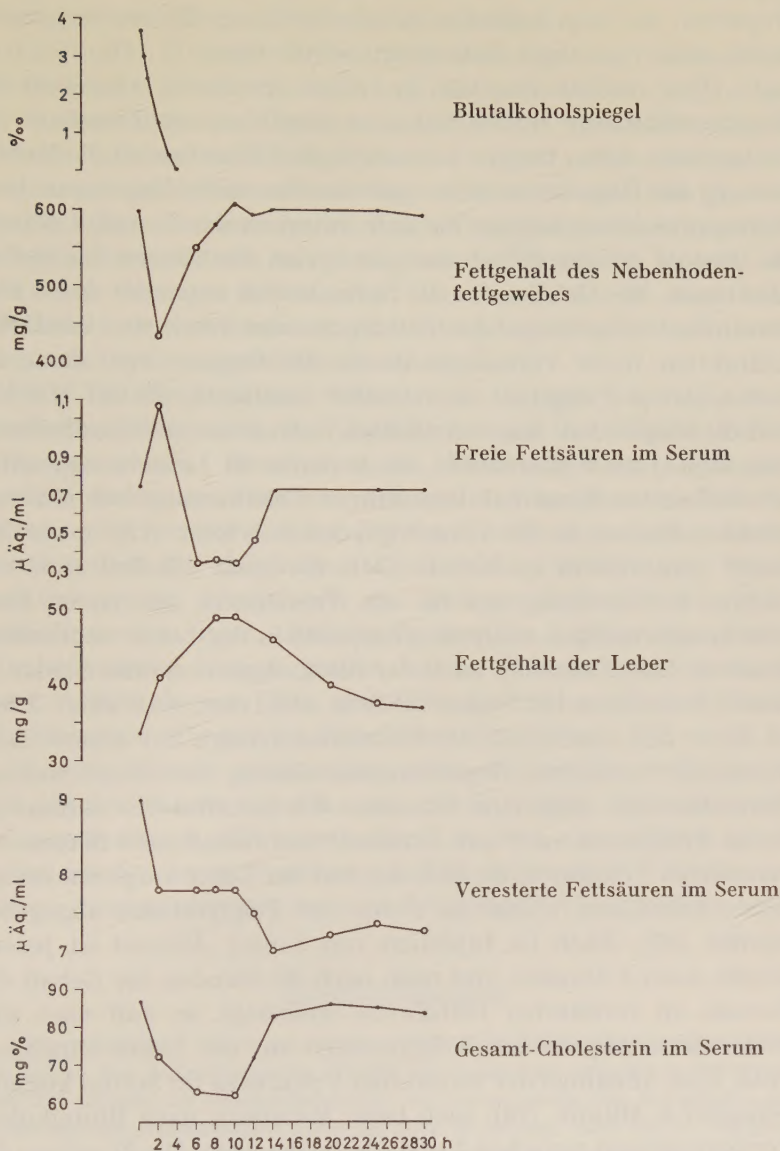


Abb. 1. Blutalkoholspiegel, Fettgehalt des Nebenhodentfettgewebes, Gehalt des Serums an freien und veresterten Fettsäuren sowie Gesamtcholesterin und Fettgehalt der Leber weißer männlicher Ratten nach i.v. Injektion von 2 mg/g Äthanol. $\circ P \leq 0,05$.

Fettsäuren bieten das Bild einer gesteigerten Mobilisierung von Depotfett, die eine indirekte Alkoholwirkung (5), hervorgerufen durch eine vermehrte Katecholaminfreisetzung (1, 19, 26), darstellt. Das erhöhte Angebot an freien Fettsäuren stimuliert die Triglyceridbildung in der Leber, wodurch es zur Zunahme des Fettgehaltes dieses Organs kommt. Nach 2 Stunden hat die Mobilisierung des Depotfettes unter unseren Versuchsbedingungen ihren Höhepunkt überschritten, da sich zwischen der 2. und 8. Stunde die Depots wieder füllen und die freien Fettsäuren im Serum abnehmen. Ihr Abfall unter die Norm könnte entweder durch eine verminderte Abgabe aus den Fettdepots oder durch eine verstärkte Extraktion freier Fettsäuren durch die Organe, vor allem die Leber, deren Fettgehalt noch weiter zunimmt, erklärt werden. Für die Möglichkeit einer verstärkten Extraktion sprechen Befunde von *Maling* und Mitarbeiter, nach denen in Leberhomogenaten alkoholisierter Tiere bei konstantem Fettsäureangebot ein verstärkter Einbau in die Lebertriglyceride erfolgt (22) sowie Befunde von *Nikkilä* u. Mitarb. (24), die nach Alkohol eine vermehrte Bereitstellung des für die Veresterung der freien Fettsäuren notwendigen α -Glycerophosphats in der Leber nachweisen konnten. Der 2 Stunden nach der Alkoholgabe erhöhte Gehalt an freien Fettsäuren im Serum schließt nicht aus, daß auch schon zu dieser Zeit eine verstärkte Extraktion erfolgt, nur könnte diese durch die verstärkte Depotfettmobilisierung überdeckt werden. Normalerweise führt eine Zunahme des Gehaltes des Serums an freien Fettsäuren auch zur Zunahme des Gehalts des Serums an veresterten Fettsäuren, da 50% der von der Leber aufgenommenen freien Fettsäuren wieder in Form von Triglyceriden abgegeben werden (27). Nach i.v. Injektion von 2 mg/g Äthanol ist jedoch bereits nach 2 Stunden und noch nach 30 Stunden der Gehalt des Serums an veresterten Fettsäuren erniedrigt, so daß man eine verminderte Abgabe von Triglyceriden aus der Leber annehmen muß. Eine Abnahme der veresterten Fettsäuren im Serum konnten *Schapiro* u. Mitarb. (28) auch beim Menschen nach Blutalkoholkonzentrationen zwischen 2 und 4‰ beobachten. Die Zunahme des Fettgehaltes in der Leber (der noch nach 25 Stunden über der Norm liegt) dürfte in keinem ursächlichen Zusammenhang mit der verminderten Abgabe von Triglyceriden stehen. Verhindert man nämlich durch ein β -Sympathicolyticum die nach Alkoholfzufuhr einsetzende Depotfettmobilisierung, so ist, obwohl der

Fettgehalt der Leber nicht zunimmt, trotzdem der Gehalt des Serums an veresterten Fettsäuren erniedrigt (13).

Die unter Äthanol beobachtete Senkung des Serum-Cholesterinspiegels dürfte ebenfalls auf eine verminderte Abgabe aus der Leber zurückzuführen sein, denn das Serum-Cholesterin stammt nahezu vollständig aus der Leber. Die Cholesterinsynthese in der Leber scheint eingeschränkt zu sein. Die Ursache hierfür könnte in einer verminderten Verfügbarkeit von Coenzym A liegen, denn wie von uns gezeigt werden konnte (2, 3), wird ein Teil des Coenzym A-Bestandes der Leber durch den beim Alkoholabbau entstehenden Acetaldehyd gebunden und somit weiteren Acylierungsreaktionen entzogen.

Wie die Senkung des Gehalts des Serums an freien und veresterten Fettsäuren, des Cholesterins und der erhöhte Leberfettgehalt zeigen, überdauern die Änderungen im Lipidstoffwechsel die Anwesenheit von Alkohol im Blut ganz beträchtlich. Daraus geht hervor, daß der Lipidstoffwechsel der Leber, insbesondere auch die Abgabe von Lipiden, die zur normalen Leberfunktion gehört, ähnlich wie der Kohlenhydratstoffwechsel (3), nach einer einmaligen Alkoholgabe über die Zeit der eigentlichen Alkoholwirkung hinaus, gestört ist. In Übereinstimmung damit fand *v. Oldershausen* (25) eine, die eigentliche Alkoholwirkung überdauernde Störung der Bengalrosa-Clearance.

Unsere Befunde stellen auch einen Beitrag zur Pathogenese der Alkoholfettleber insofern dar, als sie zeigen, daß man schon bei regelmäßiger Alkoholaufnahme in etwa 24stündigen Intervallen infolge der protrahierten Alkoholwirkung mit kontinuierlichen, irreversiblen Störungen im Lipidstoffwechsel rechnen muß.

Zusammenfassung

In vorliegender Arbeit wurde an weißen männlichen Ratten der zeitliche Verlauf in den Änderungen des Gehalts an freien und veresterten Fettsäuren und des Gehalts an Gesamtcholesterin im Serum sowie des Fettgehalts der Leber und des Nebenhodenfettgewebes über 30 Stunden nach der i.v. Injektion von 2 mg/g Alkohol untersucht. Folgende Ergebnisse wurden gewonnen:

1. 2 Stunden nach Versuchsbeginn sprechen der erniedrigte Fettgehalt der epididymalen Fettdepots sowie der erhöhte Gehalt des Serums an freien Fettsäuren für eine gesteigerte Depotfettmobilisierung.

2. Der Abfall der freien Fettsäuren nach 6 Stunden unter die Norm und der gleichzeitig noch anhaltende Anstieg des Leberfettgehaltes weisen jetzt auf eine verstärkte Extraktion von freien Fettsäuren durch die Leber hin.

3. Der noch nach 30 Stunden erniedrigte Gehalt des Serums an veresterten Fettsäuren und der bis zur 8. Stunde erniedrigte Gehalt des Serums an Cholesterin sprechen für deren verminderte Abgabe aus der Leber.

4. Die Änderungen im Lipidgehalt von Serum und Leber überdauern die eigentliche Alkoholwirkung beträchtlich. Man muß daher bei erneuter Alkoholaufnahme des Alkoholikers noch mit einem gestörten Lipidstoffwechsel aus der vorhergehenden Alkoholzufuhr rechnen, ein Vorgang, der die Entstehung einer chronischen Fettleber zweifellos begünstigt.

Summary

The present paper describes the investigation of the changes in serum concentration of free and esterified fatty acids and of total cholesterol as well as of the lipid content of the liver and epididymal fatty tissue in the male white rat over a period of 30 hours after i.v. injection of 2 mg/g alcohol.

Two hours after the beginning of the experiment, the lipid levels in the epididymal fatty tissue decreased and serum free fatty acids increased, suggesting intensified fat mobilization.

After six hours, the fall in free fatty acids below normal and the continued rise in the lipid content of the liver show an increased rate of free fatty acids by this organ.

Serum levels of esterified fatty acids remain low even after 30 hours, and those of cholesterol after eight hours, indicating that the release of lipids by the liver is diminished.

These changes in serum and liver lipids persist considerably longer than the actual effect of the alcohol. In the alcoholic, therefore, lipid metabolism will still be disturbed due to previous consumption when he takes the next dose of alcohol, a fact which undoubtedly favours chronic fatty degeneration.

Résumé

Dans le présent travail, les auteurs ont étudié l'évolution dans le temps des modifications de la teneur du sérum en acides gras libres et estérifiés, en cholestérol total, ainsi que la teneur en lipides du foie et du tissu graisseux épидидymaire, chez des rats blancs mâles ayant reçu par voie intra-veineuse 2 mg par g d'éthanol sous forme de solution aqueuse à 20 % v/v. Les résultats suivants ont été obtenus :

1° Deux heures après le début de l'expérience, l'abaissement de la teneur en lipides du tissu graisseux épидидymaire, ainsi que l'augmentation de la teneur du sérum en acides gras libres, sont en faveur d'une mobilisation accrue des dépôts graisseux.

2° La chute des acides gras libres au-dessous de la normale au bout de 6 heures et l'augmentation concomitante de la teneur en lipides du foie montrent que le foie retient davantage d'acides gras libres.

3° L'abaissement de la teneur du sérum en acides gras estérifiés, constaté encore après 30 heures et l'abaissement de la teneur du sérum en cholestérol

jusqu'à la huitième heure, parlent en faveur d'une diminution de leur libération à partir du foie.

4^o Les modifications de la teneur en lipides du sérum et du foie se prolongent davantage que l'action propre de l'alcool. Lorsqu'un alcoolique absorbe une nouvelle quantité d'alcool, il faut donc compter avec le trouble du métabolisme des lipides dû à la précédente absorption d'alcool, état de choses qui favorise l'apparition d'une stéatose hépatique chronique.

Anmerkung: Frl. H. Darweger danken wir für die gewissenhafte technische Assistenz.

Literatur

1. *Abelin, I.; Herren, C. und Berli, W.:* Über die erregende Wirkung des Alkohols auf den Adrenalin- und Noradrenalinhaushalt des menschlichen Organismus. *Helv. med. Acta* 25: 591 (1958).
2. *Ammon, H. P. T.:* Zum Mechanismus der Coenzym A-Inaktivierung nach Verabreichung von Äthanol. *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 251: 114 (1965).
3. *Ammon, H. P. T.; Estler, C.-J. und Heim, F.:* Akute Äthanolvergiftung und Leberstoffwechsel. *Arch. int. Pharmacodyn.* 159: 258 (1966).
4. *Bouchier, I. A. D. and Dawson, A. M.:* Effect of infusions of ethanol on plasma-free fatty acids in man. *Clin. Sci.* 26: 47 (1964).
5. *Brodie, B. B.; Butler, W. M. jr.; Horning, M. C.; Maickel, R. P. and Maling, H. M.:* Alcohol induced triglyceride deposition in the liver through derangement of fat transport. *Amer. J. Clin. Nutr.* 9: 432 (1961).
6. *Bücher, Th. und Redetzki, H.:* Eine spezifische photometrische Bestimmung von Äthylalkohol auf fermentativem Wege. *Klin. Wschr.* 29: 615 (1951).
7. *Connerty, H. V.; Briggs, A. R. und Eaton, E. H.:* zitiert in: *Schön, H. und Zeller, W.:* Über die Bedeutung erhöhter Serumlipidwerte für die Atherogenese. Behandlungsmöglichkeiten. *Münch. med. Wschr.* 104: 2433 (1962).
8. *Di Luzio, N. R.:* Effect of acute ethanol intoxication on liver and plasma lipid fractions of the rat. *Amer. J. Physiol.* 194: 453 (1958).
9. *Dole, V. P. und Meinertz, H.:* Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues. *J. biol. Chem.* 235: 2595 (1960).
10. *Ducceschi, V.:* La colesterina del sangue nella intossicazione per alcool. *Arch. di Fisiologica* 13: 147 (1915).
11. *Eberhard, T. P.:* Effect of alcohol on cholesterol-induced atherosclerosis in rabbits. *Arch. Path.* 21: 616 (1936).
12. *Elko, E. E.; Wooles, W. R. und Di Luzio, N. R.:* Alterations and mobilization of lipids in acute ethanol-treated rats. *Amer. J. Physiol.* 201: 923 (1961).
13. *Estler, C.-J. und Ammon, H. P. T.:* The influence of 1-(isopropylamino)-3-(m-toloxyl)-2-propanol HCl (Kö 592) on the ethanol-induced fatty liver of white rats. *Proc. of 2nd intern. sympos. on drugs affecting lipid metabolism, Milano (in press) (Karger, Basel 1965).*
14. *Grande, F.; Hay, L. J.; Heupel, H. W. und Amatuzio, D. S.:* Effect of ethanol on serum cholesterol concentration in dog and man. *Circulat. Res.* 8: 810 (1960).

15. Hobson, W.; Jordan, A. and Roseman, C.: Serum cholesterol levels in elderly people living at home. *Lancet* 2: 961 (1953).
16. Jankelson, O. M.; Vitale, J. J. and Hegsted, D. M.: Serum magnesium, cholesterol and lipoproteins in patients with atherosclerosis and alcoholism. *Amer. J. clin. Nutrit.* 7: 23 (1929).
17. van de Kamer, I. H.; ten Bokkel Huinink and Weijers, H. A.: Rapid method for the determination of fat in feces. *J. biol. Chem.* 177: 347 (1949).
18. Klatskin, G.: Alcohol and its relation to liver damage. *Gastroenterology* 41: 443 (1961).
19. Klingman, G. J. and Goodall, McC.: Urinary epinephrine and levarterenol excretion during acute sublethal alcohol intoxication. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 121: 313 (1957).
20. Lieber, C. S.; Leevy, C. M.; Stein, S. W.; George, W. S.; Cherrick, G. R.; Abelman, W. H. and Davidson, C. S.: Effect of ethanol on plasma-free fatty acids in man. *J. lab. clin. Med.* 59: 826 (1962).
21. Lund, E. and Geill, T.: Serum lipids in relation to the intake of alcohol and sodium chloride. *Nature* 191: 1095 (1961).
22. Maling, H. M.; Wakabayashi, M. and Horning, M. G.: Alterations in hepatic lipid biosynthetic pathways after ethanol, ethionine and carbon tetrachloride. *Advances in enzyme regulation*. Pergamon Press 1963, Vol. 1.
23. Mallov, S.: Effect of ethanol intoxication on plasma-free fatty acids in the rat. *Quart. J. Stud. Alcohol* 22: 250 (1961).
24. Nikkilä, E. A. and Ojala, K.: Role of hepatic L- α -glycerophosphate and triglyceride synthesis in production of fatty liver by ethanol. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.* 113: 814 (1963).
25. Oldershausen, v. H.-F.: Über die Pathogenese alkoholischer Leberschäden. *Dtsch. med. Wschr.* 89: 867 (1964).
26. Perman, E. S.: The effect of ethyl alcohol on the secretion from the adrenal medulla of the cat. *Acta physiol. scand.* 48: 323 (1960).
27. Robinson, D. S.: The uptake and release of lipids by the liver. *Proc. int. symp. on lipid transport*, Tennessee (Thomas, Springfield-Illinois 1963).
28. Schapiro, R. H.; Drummey, G. H.; Scheig, R.; Mendelson, J. H. and Isselbacher, K. J.: Abnormalities of lipid transport accompanying prolonged alcohol ingestion in man. *Gastroenterology* 44: 849 (1963).
29. Seakins, A. and Robinson, D. S.: Changes associated with the production of fatty livers by the white phosphorus and by ethanol in the rat. *Biochem. J.* 92: 308 (1964).

Adresse der Autoren: Dr. Hermann P. T. Ammon, Pharmakologisches Institut der Universität, Universitätsstr. 22, D-852 Erlangen.

L e b e n s l a u f

Ich, Rudolf Hans Heinrich Pfeiffer, wurde am 10. August 1937 in Nürnberg als einziges Kind des Diplomchemikers Dr. rer. nat. Johann Pfeiffer und seiner Ehefrau Johanna, geb. Hofer, geboren.

Meine Kindheit verbrachte ich in Erlangen, wo ich vom Herbst 1943 bis Juli 1947 die Volksschule besuchte. Anschließend war ich bis Juli 1954 Schüler des Gymnasiums Fridericianum in Erlangen. Im September 1954 wechselte ich auf das Neue Gymnasium in Nürnberg über, wo ich am 17. Juli 1958 die Reifeprüfung ablegte. In der Zeit vom 6. Oktober 1958 bis zum 30. September 1959 leistete ich in Dillingen/Donau meinen Grundwehrdienst ab.

Mein medizinisches Studium begann ich im Wintersemester 1959/60 an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Bis auf ein klinisches Semester 1963/64 in Wien war ich an der hiesigen Universität immatrikuliert, wo ich im September 1965 mein elfsemestriges Studium mit dem Staatsexamen abgeschlossen habe. In den folgenden Tagen bis jetzt beendete ich meine Dissertation.

